

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 上 原 正 弘

主論文 1 編

Pharmacological inhibition of ataxia-telangiectasia mutated exacerbates acute kidney injury by activating p53 signaling in mice.

Scientific Reports 10, Article number: 4441, 2020

審 査 結 果 の 要 旨

急性腎障害において傷害を受けた尿細管上皮細胞は細胞周期を停止し、周囲の組織に対して繊維化促進因子を放出し、その結果腎臓の繊維化が惹起されると考えられている。細胞周期関連蛋白 ATM は DNA 傷害を受けた細胞で活性化し細胞周期停止や DNA 修復に関わっているとされているが、急性腎障害における働きについては明らかでない。申請者は本研究でシスプラチン腎症モデルマウスにおいて ATM を阻害することにより腎障害が悪化し、傷害近位尿細管特異的な解析を行うことにより p53 と下流のアポトーシス関連遺伝子の活性化、DNA 修復関連遺伝子の発現低下が起きていることを明らかにした。

申請者はまずシスプラチンと ATM 阻害薬 KU55933 を C57/BL6 マウスへ併用投与することにより 14 日目までの生存率が併用群で優位に低下することを示した。次に申請者は薬剤投与 4 日目の腎組織を評価したところ、KU55933 とシスプラチン併用投与群では優位に腎障害が悪化しており、尿細管上皮細胞の脱落が極めて高度であった。このことは ATM の阻害は何らかの特異的な経路でシスプラチンによる腎障害を悪化させている可能性があると考えられ、申請者はさらに早期の表現型を研究することとした。

次に申請者は薬剤投与 2 日目の腎組織を評価し、傷害尿細管上皮細胞では ATM が活性化しており、KU55933 はこれを抑制していることを示した。また併用投与群では尿細管上皮細胞において有意な DNA 傷害の悪化を認めた。さらに申請者は近位尿細管特異的な表現型を観察するため、tamoxifen 投与により近位尿細管のみを tdTomato でラベルすることのできる遺伝子改変マウスを用いて同様の実験を行い薬剤投与 2 日目に FACS により tdTomato 陽性細胞のみを回収しこれを解析した。ATM の下流シグナルの一つである p53 に注目したところ、併用群では p53 が有意に活性化しており、さらに下流の関連遺伝子 (*cdkn1a*, *bax*, *bbc3*, *cdk2*) が活性化し広範なアポトーシスが起きていることが判明した。さらに申請者は p53 阻害薬 Pifithrin- α を同モデルにおいて併用投与したが、Pifithrin- α では腎障害を軽減させることはできなかった。

最後に、申請者は KU55933 が DNA 修復経路に影響を与えることにより腎障害が悪化した可能性を考え、DNA 修復経路関連遺伝子について解析した。併用群では Homological Recombination 関連遺伝子 (*xrcc2*, *xrcc3*) が高度に上昇しているのに対し、SSB repair 関連遺伝子 (*parp1*, *parp2*, *xrcc1*, *aptx*) や Fanconi anemia 経路関連遺伝子 (*brca2*, *fancd2*) は相対的に上昇が抑制されている傾向が見られた。

これらのことからシスプラチン腎症モデルにおいて ATM 阻害を起こすと腎障害は極度に悪化し、それらは p53 の活性化と DNA 修復経路の障害を伴っていることが示された。

以上が本論文の要旨であるが、急性腎障害における ATM の働きの一端を明らかにした点で、医学上価値のある研究と認める。

令和 2 年 9 月 17 日

審査委員 教授 田 中 秀 央 ㊞

審査委員 教授 浮 村 理 ㊞

審査委員 教授 黒 田 純 也 ㊞